

РАЗДЕЛ II. Экспериментальные исследования

СХОДСТВО ВЛИЯНИЯ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА И ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ПЕРЕНЕСЕННОГО СТРЕССА НА ХАРАКТЕР НАРУШЕНИЯ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПОСЛЕ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

Беляева Л.Е., Шебеко В.И., Солодков А.П.

Витебский государственный медицинский университет, Беларусь

В реальных жизненных условиях острая кровопотеря часто возникает на фоне стрессовых ситуаций. Ранее было показано, что изменение коронарного потока после перенесенного 6-часового иммобилизационного стресса, а также после выраженной и продолжительной постгеморрагической артериальной гипотензии имеет стереотипный характер [1]. В то же время, предварительно перенесенный иммобилизационный стресс предупреждает нарушение тонуса коронарных сосудов, вызванное кровопотерей [2]. Целью работы было: изучить (1) характер изменения базального образования оксида азота эндотелиальными клетками коронарных сосудов, а также (2) динамику изменения тонуса сосудов сердца при увеличении объемной скорости коронарного потока при острой кровопотере и ее сочетании с предварительно вызванным стрессом и (3) сопоставить полученные данные с состоянием редокс-системы глутатиона в миокарде.

Материалы и методы исследований

Опыты выполнены на 108 крысах-самках линии Wistar, разделенных на следующие группы: контроль; 6-часовой иммобилизационный стресс (ИС); 2-часовая постгеморрагическая артериальная гипотензия; постгеморрагическая гипотензия на фоне предварительно вызванного ИС. ИС моделировали путем жесткой фиксации крыс в положении на спине. Постгеморрагическую гипотензию вызывали с помощью многократных кровопусканий из сонной артерии под контролем среднего артериального давления, поддерживая его на уровне 40 – 50 мм рт. ст. в течение двух часов [6].

В 1-й серии экспериментов изолированное по Лангендорфу сердце крысы перфузировали раствором Кребса-Хензеляйта в изотоническом режиме в условиях постоянного давления. Эта экспериментальная модель наиболее адекватна для изучения показателей, отражающих характер тонуса коронарных сосудов. В этих условиях сердце не производит внешней работы, и поэтому влияние метаболитов миокардиального

происхождения на тонус коронарных сосудов практически исключается. Перфузионное давление (ПД) повышали ступенчато с 40 до 120 мм рт. ст. с шагом, равным 20 мм рт. ст. Измеряли объемную скорость коронарного потока (ОСКП). Рассчитывали индекс ауторегуляции (ИА), отражающий способность коронарных сосудов к сокращению при повышении ПД [4] и величину коронарного расширительного резерва (КРР).

Во 2-й серии экспериментов сопоставляли величины ОСКП с состоянием сократительной функции миокарда. С этой целью перфузию сердца осуществляли в изометрическом режиме в условиях постоянного давления при (а) интактной NO-синтазе и (б) в условиях ее ингибирования с помощью L-NAME (концентрация в перфузионном растворе - 60 мкМ/л). Регистрировали величину давления, развиваемого миокардом левого желудочка (РД) и рассчитывали коэффициент перфузии миокарда (КП) [3].

В 3-й серии опытов сердце перфузировали в условиях постоянного потока. Изучали динамику изменения тонуса коронарных сосудов при резком увеличении ОСКП, т. е. ответ эндотелиоцитов на увеличение действующего на них напряжения сдвига. Исходная ОСКП равнялась 4 мл/мин. Через 5-7 минут после стабилизации коронарного перфузионного давления (КПД) резко увеличивали ОСКП до 20 мл/мин. Это первоначально приводило к скачкообразному увеличению КПД, а затем оно снижалось. Определяли величину максимального КПД и степень его снижения на 45-90-й секунде после пика увеличения КПС.

В 4-й серии экспериментов животным на 70-й минуте после начала кровопускания вводили N-ацетилцистеин (N-АЦ, в/венно, в дозе 40 мг/кг). Оценивали его влияние на динамику изменения КПД при увеличении действия напряжения сдвига (индуцируемая потоком вазодилатация) после острой кровопотери. Определяли содержание окисленной и восстановленной формы глутатиона, концентрацию малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы в миокарде по общепринятым методикам.

Результаты и их обсуждение

Обнаруженные значения ОСКП в 1-й серии экспериментов представлены в таблице 1.

Отметим, что степень увеличения ОСКП после ИС с последующим кровопусканием была существенно меньше, чем после воздействия только стресса или только кровопотери, по сравнению с контролем (табл. 1).

Значения ИА в опытных группах представлены в таблице 2.

В группе "стресс + кровопотеря" способность коронарных сосудов к сужению практически не изменялась, поскольку значения ИА не отличались от контрольных. Кроме того, в группе "стресс + кровопотеря" отмечалось менее выраженное снижение КРР, по сравнению с таковым после стресса и после кровопотери. Значит, предварительно перенесенный

стресс предупреждал нарушение тонуса коронарных сосудов, возникающее в условиях острой кровопотери.

Таблица 1

Величины ОСКП (мл/мин/г сухой массы миокарда левого желудочка сердца) при перфузии изолированного сердца крысы в условиях постоянного давления в изотоническом режиме

Группы крыс	ПД, мм рт. ст.				
	40	60	80	100	120
Контроль	50,4 \pm 3,8	82,6 \pm 7,9	92 \pm 6,8	94 \pm 7,4	103,6 \pm 4,3
Стресс	60,4 \pm 5,8	108,4 \pm 9*	123,3 \pm 9,9*	163,6 \pm 6,7*	185,2 \pm 7,4*
Кровопотеря	46,3 \pm 5,2	94,2 \pm 7	140,8 \pm 6,7*	151,6 \pm 13,6*	155,8 \pm 12,4*
Стресс+крово- потеря	62,3 \pm 6,2	97,6 \pm 7,6	110 \pm 6,2*, **	120,9 \pm 8*, **, ***	127,7 \pm 7,8*, ** ***

Примечание: здесь и в табл. 2

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

** $p < 0,05$ по сравнению с кровопотерей

*** $p < 0,05$ по сравнению со стрессом

Таблица 2

Величины ИА при перфузии сердца в изотоническом режиме в условиях постоянного давления

Группы крыс	ПД, мм рт. ст.			
	40-60	60-80	80-100	100-120
Контроль	0,44 \pm 0,11	0,73 \pm 0,09	0,66 \pm 0,03	0,66 \pm 0,02
Стресс	0,35 \pm 0,07	0,54 \pm 0,07	0,5 \pm 0,07	0,37 \pm 0,09*
Кровопотеря	0,27 \pm 0,05*	0,37 \pm 0,07*	0,35 \pm 0,06*	0,56 \pm 0,11
Стресс + кровопотеря	0,43 \pm 0,07**	0,61 \pm 0,05**	0,67 \pm 0,09**	0,65 \pm 0,07***

Во 2-й серии экспериментов (изометрический режим) характер изменений ИА и КРР в условиях интактной NO-синтазы был сходным с таковым при перфузии сердца в изотоническом режиме. Увеличение ОСКП после стресса, кровопотери и после стресса с последующим

кропусканием было одинаковым, составляя в среднем 34%. Степень снижения величины РД также была одинаковой во всех опытных группах (28,1-36,6%), по сравнению с контролем. При этом КП в опытных группах возрастал на 97,7-105,8%, что расценивалось как явление гиперперфузии миокарда, описанное ранее после воздействия ИС [3].

В условиях ингибирования NO-синтазы значения ОСКП при различных уровнях ПД уменьшались в контроле и опытных группах. Важно, что после кровопотери величины ОСКП при различных уровнях ПД снижались в ответ на L-NAME в среднем на 21%, тогда как в группе "стресс+кровопотеря" - в среднем на 40%. Тот факт, что ингибитор NO-синтазы в большей степени уменьшал значения ОСКП в опытных группах, свидетельствует о повышении базальной продукции NO эндотелиоцитами коронарных сосудов. Уменьшение выраженности вазоконстрикции в ответ на L-NAME после кровопотери может свидетельствовать о повышении образования в коронарных сосудах других веществ с сосудорасширяющим действием – эндотелиального фактора гиперполяризации и простациклина, а также о снижении сократительной способности сосудистых гладкомышечных клеток.

При перфузии сердца в условиях постоянного потока исходная величина КПД при начальной ОСКП была практически одинаковой в контроле и опыте и составляла в среднем 31,4 мм рт. ст. В то же время, максимальное значение КПД после скачкообразного повышения ОСКП до 20 мл/мин было различным (рисунок 1).

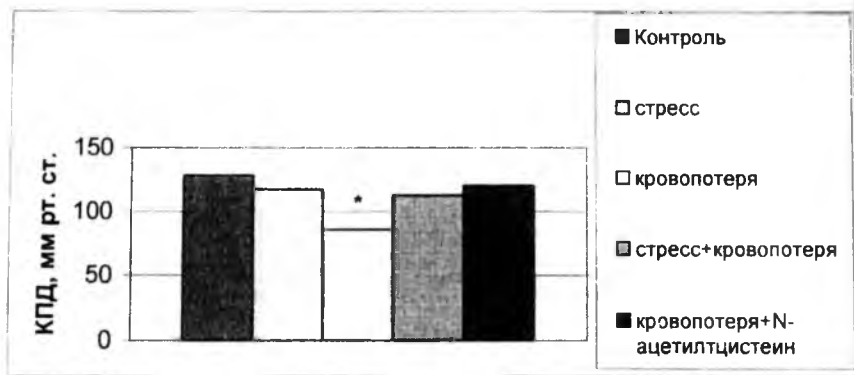


Рис. 1. Значения максимального КПД после увеличения ОСКП с 4 до 20 мл/мин при перфузии сердца в условиях постоянного потока.

*- $p < 0,05$ по сравнению с контрольным значением.

После кровопотери максимальное значение КПД снижалось, по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Выраженность максимального увеличения КПД в группе "стресс+кровопотеря" практически

соответствовала таковой в контроле (рис. 1).

Степень уменьшения КПД на 45-90 сек. также отличалась в опытных и контрольной группах, составляя после ИС - 35,8%, после кровопотери - 34,1%, в группе "стресс+кровопотеря" - 48,2%, в контроле - 20,9%. Еще раз отметим, что после острой кровопотери величина КПД при повышении ОСКП была достоверно меньше по сравнению с таковой в контроле и остальных опытных группах.

Имеются основания считать, что острая кровопотеря приводит к нарушению сократительной активности гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Во-первых, уменьшение ОСКП в ответ на L-NAME было существенно меньше после кровопотери, чем в контроле и остальных опытных группах. Во-вторых, после кровопотери максимальный прирост КПД при увеличении ОСКП достоверно снижался по сравнению с КПД в контроле и опыте.

Еще раз подчеркнем, что характер изменения тонуса коронарных сосудов после острой кровопотери на фоне предварительно перенесенного стресса был качественно другим, по сравнению с таковым после кровопотери. Это позволяет считать, что предварительное действие стрессора изменяет функциональное состояние эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Одним из важнейших механизмов такого влияния стресса является изменение редокс-состояния клеток коронарных сосудов, в частности, нарушение редокс-состояния системы глутатиона и тиоредоксина. Обнаруженное нами изменение соотношения между окисленным и восстановленным глутатионом в пользу преобладания его окисленной формы, является одним из важных доказательств изменения редокс-регуляции клеток миокарда и коронарных сосудов после ИС. (рис. 2). Показателем, отражающим избыточное образование активных форм кислорода в миокарде после стресса, явилось также увеличение концентрации МДА (на 47%, по сравнению с контролем).

□ Окисл ■ Восст



Контроль



Стресс

Рис. 2. Соотношение содержания окисленного и восстановленного глутатиона в миокарде (МкМ/л).

В пользу важности роли нарушения редокс-состояния клеток коронарных сосудов после ИС может рассматриваться также обнаруженное снижение активности каталазы в миокарде (на 4,7 %, по сравнению с контролем). Учитывая роль пероксида водорода в механизмах редокс-регуляции клеточных функций, последний факт представляется интересным [5].

Поскольку редокс-состояние клетки оказывает выраженное влияние на образование и действие оксида азота, активность ряда протеинкиназ, функционирование ионных каналов, активность некоторых молекулярных шаперонов, а также на процессы депонирования и освобождения Ca^{2+} в цитозоль и др.[5], то изменение характера нарушения тонуса коронарных сосудов в условиях острой кровопотери после предварительно перенесенного ИС кажется вполне закономерным.

Введение крысам на 70-й минуте постгеморрагической артериальной гипотензии N-АЦ приводило к тому, что максимальное значение КПД после увеличения ОСКП было достоверно больше, чем после кровопотери ($120,1 \pm 18,4$ мм рт. ст против $85,7 \pm 5,2$ мм рт. ст), и не отличалось от контрольного (рис. 1). Степень снижения КПД на 45-90-й сек. после максимального увеличения ОСКП при этом составляла 34,8% (в контроле - 20,9%). Значит, N-АЦ восстанавливал способность гладкомышечных клеток коронарных сосудов к сокращению и при этом существенно не изменял величину снижения КПД при увеличении действующего на эндотелий напряжения сдвига. Фактически, введение животным N-АЦ после кровопускания оказывало такое же влияние на тонус коронарных сосудов, что и предварительно перенесенный ИС.

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Острая кровопотеря изменяет эндотелийзависимую регуляцию тонуса коронарных сосудов и нарушает функциональную активность сосудистых гладкомышечных клеток.
2. Изменение эндотелийзависимой регуляции тонуса коронарных сосудов характеризуется повышением базальной продукции NO и увеличением чувствительности эндотелиальных клеток к действию напряжения сдвига.
3. Предварительно перенесенный 6-часовой ИС изменяет функциональную активность клеток коронарных сосудов, в том числе и через механизмы редокс-регуляции их функций.
4. Характер влияния предварительно перенесенного ИС на тонус коронарных сосудов после острой кровопотери сходен с действием N-ацетилцистеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева Л. Е, Солодков А. П., Шебеко В. И. Неспецифический характер изменения эндотелийзависимой регуляции сосудистого тонуса при

различных видах стресса. // Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности. Минск: "Полибиг", 1999.- С. 137 -138.

2. Беляева Л.Е., Цвирко И.А. К механизму нарушений тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда после сочетанного воздействия стресса и кровопотери. // Теоретические и практические вопросы медицины и фармации.- Витебск: ВГМУ, 2000. – С. 36-39.

3. Божко А.П., Солодков А.П. Влияние комбинированного воздействия иммобилизации и холода на коронарное кровообращение и сократительную функцию изолированного сердца. // Вести Академии Наук Беларуси.-1993.-N4.-С. 66-71.

4. Новикова Е.Б. Авторегуляция в коронарной системе. // Физиолог. ж-л СССР.- 1972.- Т.58, N 1.- С. 61-71.

5. Шебеко В.И. Эндотелий и система комплемента. Витебск: ВГМУ, 1999.- 134 с.

6. Wiggers, C.J. The Physiology of Shock. // Common Wealth Fund:- New York, 1950.- P. 324.

ВЛИЯНИЕ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ЭНДОГЕННОГО ЭНДОТЕЛИНА-1 НА ПАРАМЕТРЫ ГЕМОДИНАМИКИ И СОСУДИСТЫЙ ТОНУС У КРЫС

¹Графов М.А., ²Гаврилова С.А., ³Рубина А.Ю., ³Масенко В.П., ²Медведева Н.А.

¹*Факультет Фундаментальной медицины и* ²*Биологический факультет,*
Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, ³*Российский*
Кардиологический Научно-производственный Комплекс МЗ РФ; Москва

Введение

Эндотелин-1 (ЕТ-1) принимает непосредственное участие в регуляции сосудистого тонуса. Кроме прямого сосудосуживающего воздействия на гладкие мышцы и опосредуемого эндотелием расширения сосудов, этот пептид модулирует нейрогуморальную регуляцию кровеносных сосудов, контролирует работу сердца и чувствительность сосудов, играет роль в определении вязкости крови (обзоры - 1, 2). Длительные эффекты ЕТ-1 включают в себя стимуляцию пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, ангиогенез (там же). В настоящий момент большинство сведений по этому направлению получено в экспериментах с искусственным увеличением уровня ЕТ-1 (вплоть до его фармакологических концентраций), или - более того - при патофизиологических условиях. В противовес этому, физиологическая роль эндогенного пептида остается малоизученной (3). С одной стороны,